

FENILKETONURIJA I DRUGE HIPERFENILALANINEMIJE

Phenylketonuria and Hyperphenylalaninemia

Alma Toromanović i Husref Tahirović

Klinika za dječije bolesti Univerzitetsko-kliničkog centra u Tuzli

Revijalni članak

Sažetak

U radu je iznesena klasifikacija hiperfenilalaninemija, a zatim je opisana klasična fenilketonurija, sa posebnim osvrtom na liječenje i praćenje pacijenata. Potom su definirani ostali oblici hiperfenilalaninemija sa akcentom na tetrahidrobiopterin deficijentnu hiperfenilalaninemiju. U daljnjem tekstu opisana je procedura analize rezultata novorođenačkog skrininga na fenilketonuriju.

Ključne riječi: fenilketonurija, hiperfenilalaninemija, skrining.

Review article

Summary

This is a brief review of the hyperphenylalaninemia and their classification. The classical phenylketonuria is described in some details, along with procedures for treatment and follow up of patients. The other forms of hyperphenylalaninemia are briefly reviewed, with some more details of the form due to tetrahydrobiopterin deficiency. In addition, the procedures for the analysis of the results of neonatal screening for phenylketonuria are delineated.

Key words: phenylketonuria, hyperphenylalaninemia, screening.

UVOD

Fenilketonuriju (PKU) je opisao norveški pedijatar Følling 1934. godine. To je prva bolest iz skupine nasljednih metaboličkih bolesti u kojoj je jasno utvrđena veza između naslijeđenog bio-

hemijskog poremećaja i mentalne zaostalosti. Biohemijsko objašnjenje PKU je dobila zahvaljujući Jervisu 1953. godine. Godinu dana kasnije (1954.) Bickel otkriva mogućnost njenog dijetnog liječenja, a primjena Guthrieva testa 1962. godine omogućila je otkrivanje bolesti u neona-

talnom periodu. Važnost njezina ranog dijagnosticiranja je primarno u tome što blagovremeno otkrivena i pravilno liječena, prolazi sa minimalnim ili bez

kako i da li PKU treba klasificirati na osnovu nivoa fenilalanina (Phe). Jedna od prihvatljivih klasifikacija predloženih u novije vrijeme prikazana je na Tabeli 1 (1).

Tabela 1

Klasifikacija HPA i deficita BH4

1. Deficit fenilalanin hidroksilaze

- a) Klasična PKU (Phe > 1.2 mmol/L)
- b) Atipična PKU (Phe 0.6 - 1.2 mmol/L)
- c) Benigna HPA (Phe 0.12 - 0.6 mmol/L)
- d) HPA/PKU osjetljiva na BH4 (Phe 0.3 - 1.7 mmol/L)

2. Deficit tetrahidrobiopterina

Sa HPA

- a) Deficit guanozin-trifosfat ciklohidrolaze (GTPCH) (Phe 0.09-1.2 mmol/L)
- b) Deficit 6-piruvoil-tetrahidropterin sintetaze (Phe 0.24-2.5 mmol/L)
- c) Deficit dihidropteridin reduktaze (Phe 0.18-2.5 mmol/L)
- d) Deficit pterin-4a-karbinolamine dehidrataze (Phe 0.18-1.2 mmol/L)

Bez HPA

- a) Dopa-osjetljiva distonija zbog deficita GTPCH (Phe < 0.12 mmol/L)
 - b) Deficit sepiapterin reduktaze (Phe < 0.12 mmol/L)
-

simptoma bolesti, iako se radi o teškoj hroničnoj bolesti čiji je vodeći simptom mentalna retardacija.

Incidenca PKU vrlo je različita u različitim krajevima svijeta i među raznim narodima. Dok naprimjer Židovi Aškenazi vrlo rijetko boluju od PKU (1:200.000), dotle je visoka incidenca uočena u Turskoj (1:2.600) i Irskoj (1:4.500). Prosječna incidenca je 1:10.000 - 1:20.000.

Postoji nekoliko klinički i biohemijski različitih formi hiperfenilalaninemija (HPA), mada još uvijek nije usaglašeno

KLASIČNA PKU

Etiopatogeneza. Klasična PKU uzrokovana je potpunim nedostatkom (ispod 1%) jetrenog enzima fenilalanin-hidroksilaze (PAH) i tipičan je primjer monofaktorske bolesti s urođenom greškom metabolizma aminokiselina. Posljedica je nemogućnost oksidacije Phe u tirozin sa povećanjem koncentracije Phe i njegovih nenormalnih metabolita u stanicama i tjelesnim tekućinama. Sporedni metabolički putovi razgradnje

Phe u normalnim okolnostima nemaju praktičnog značenja, ali se aktiviraju kada je poremećen normalni put razgradnje preko tirozina. Jedan od tih putova je transaminacija u fenilpiruvičnu kiselinu, koja se pojavljuje u mokraći u djece sa PKU i po kojoj je bolest dobila ime oligofrenija fenilpiruvika. Phe i njegovi metaboliti u velikim koncentracijama vode oštećenju funkcije CNS. Tačan mehanizam kojim deficit PAH uzrokuje oštećenje CNS nije još uvijek poznat, ali se čini da je posljedica povećane koncentracije Phe i smanjene koncentracije drugih neutralnih aminokiselina, posebno metionina i tirozina u CNS. Ovo uzrokuje deficit neurotransmitera dopamina, smanjenje sinteze proteina u mozgu i demijelinizaciju (2).

Klinički simptomi. Djeca sa klasičnom PKU u prvim danima i sedmicama života nemaju uočljivih simptoma. PKU se manifestira već polovicom prve godine života promjenama kože (seboroične, slično ekcemu), svijetlom kožom i kosom, svijetlim očima (hipopigmentacija), mentalnom retardacijom, konvulzijama miokloničkoga tipa (25%), povraćanjem koje može biti rani simptom, distonijom muskulature sa hiperrefleksijom, psihomotornim nemirom, posebnim mirisom djeteta i prostora u kome se ono nalazi (karakterističan miris znoja i mokraće po miševima što potiče od fenilmliječne kiseline). Poslije se pridružuju i simptomi psihičkih poremećaja, mikrocefalija, prominentna maksila, hipoplazija zubne cakline, široko razmaknuti zubi, zaostatak u tjelesnom razvoju, razvija se sve teža psihomotorna retardacija (IQ

<40 u 85% PKU neliječenih bolesnika, IQ <10 u 37%, IQ > 70 u manje od 1%), IQ neliječene djece pada za 50 do kraja prve godine života, nastaje i spastična ili mlohava pareza skeletne muskulature (30%), registruje se patološki izmijenjen EEG (80%) (3,4).

Dijagnoza. Koncentracija fenilalanina u krvi je iznad 1,2 mmol/L, nivo tirozina je normalan ili smanjen, u urinu je povišen nivo metabolita Phe (fenilpiruvična i orto-hidroksifenilacetična kiselina), a koncentracija kofaktora BH4 je normalna.

Liječenje podrazumijeva restrikciju unosa Phe uz adekvatan proteinski i kalorijski unos koji treba omogućiti normalan rast i razvoj djeteta. Ishranom siromašnom fenilalaninom, ako je na vrijeme započeta, mogu se spriječiti oštećenja CNS. Posebna ishrana je ovdje obavezna mjera. Liječenje treba započeti u prve 3 sedmice života. Ishranu siromašnu Phe treba započeti u novorođenčadi u koje koncentracija Phe prelazi 0,6 mmol/L, uz normalnu ili sniženu koncentraciju tirozina, a koja su na normalnoj ishrani. Kod djece u koje se koncentracije Phe održavaju između 0,4 i 0,6 mmol/L više od nekoliko dana, treba također započeti liječenje. U momentu dijagnoze ishrana se sastoji isključivo od formule bez Phe prvih nekoliko dana da bi se osigurao brzi pad Phe ispod 0,6 mmol/L uz redovnu kontrolu Phe u krvi. Potom slijedi kombinacija formule bez Phe (P-AM 1, Analog, PKU 1, PKU 1 mix) i majčinog ili adaptiranog mlijeka. Dijeta podrazumijeva proteinsku supstituciju koja ne sadrži Phe, ali obezbjeđuje unos 100-120 mg/kg/dan

tirozina i unos aminokiselina od najmanje 3 g/kg/dan u djece ispod 2 godine, te 2 g/kg/dan u djece iznad 2 godine. Ishrana siromašna Phe, uključujući specijalne formule kao i niskoproteinske proizvode, najvjerojatnije će biti potrebna doživotno za sve osobe sa PKU (5).

Praćenje. Nakon postavljanja definitivne dijagnoze i početka liječenja neophodno je kontinuirano praćenje nivoa Phe u krvi. Koncentracija Phe se određuje u suhoj kapi krvi na filter-papiru fluorometrijskom ili enzimatskom metodom. Preporuke za kontrolu Phe u krvi su sljedeće: 1 × sedmično do kraja 1. godine života, 2 × mjesečno od 1. do 12. godine, 1 × mjesečno nakon 12. godine, 2 × sedmično u trudnoći. Optimalne vrijednosti Phe u krvi su: 0.12-0.36 mmol/L do 12. godine i 0.12-0.6 mmol/L nakon 12. godine života (5). Kontrole u pogledu zdravstvenog stanja i ishrane su nužne svaka 2-3 mjeseca tokom prve godine života, svaka 3-4 mjeseca u predškolskom uzrastu i svakih 6 mjeseci u školskom uzrastu. Indicirane su kontrole nivoa tirozina u krvi 1-2 puta godišnje, kao i kontrole psihologa, te EEG-a jedanput godišnje.

Prognoza. Ona vezana za psihomotorni razvoj bitno ovisi o vremenu započetoga liječenja. Dijetom se, ako je na vrijeme započeta i dosljedno provođena, postiže uglavnom zadovoljavajući učinak. Preko 95% djece koja su pravilno liječena razvilo je normalnu inteligenciju (6). Međutim, malom broju slučajeva, čak i pored pridržavanja dijetete, ona ne može ponuditi punu zaštitu od suptilnih efekata PKU. IQ u liječenih osoba, mada često u granicama normale za opštu

populaciju, prosječno je niži od onih u roditelja, braće i sestara. Zabilježeni su blagi psihološki deficiti kao perceptualna motorna disfunkcija, te poremećaj pažnje (7). Longitudinalne studije govore o srednjoj vrijednosti IQ od 100 u djece koja su praćena do 12. godine života (8). U slučaju napuštanja dijetete nakon 12. godine IQ ostaje stabilan, ali dolazi do pogoršanja kognitivnih funkcija (9). Zabilježeno je povećanje mišićnog tonusa, tremor, promjene na EEG-u. Zato se danas preporučuje pridržavanje dijetete tokom adolescencije i u odrasloj dobi.

Genetička informacija. PKU je autosomno recesivno nasljedna. Gen za fenilalaninhidroksilazu (PAH) lociran je na hromosomu 12q22-q24.1. To je gen koji je dug oko 90 kb, sadrži 13 egzona s intronima i sklon je polimorfizmu. Iako smo još daleko od potpuna poznavanja polimorfizma gena za PAH, već danas znamo da pojedine populacije imaju specifične, samo njima svojstvene mutacije. S obzirom na broj dosad poznatih mutacija PAH-gena, koje obuhvataju tek polovicu očekivanih, proći će još dosta vremena da genotipske promjene uz PKU mogu objasniti i sve fenotipske varijante bolesti. Dosad je opisano preko 400 mutacija.

ATIPIČNA (BLAGA) PKU

Posrijedi je slika klasične PKU sa blažim kliničkim simptomima. Koncentracije fenilalanina u krvi se kreću od 0.6 do 1.2 mmol/L. I kod ove forme fenilketonurije potreban je trajan nadzor i dijetno liječenje.

BENIGNA HIPERFENILALANINEMIJA

Skupina tih metaboličkih promjena ne zahtijeva nikakvo liječenje, jer je nivo Phe u krvi ispod kritičnih vrijednosti, a psihomotorni razvoj te djece normalan i na običnoj ishrani, tj. djeca nisu izložena riziku razvoja intelektualnih, neuroloških i neuropsiholoških poremećaja. Molekularno genetsko testiranje PAH gena u ove djece može se koristiti za potvrdu PAH deficita.

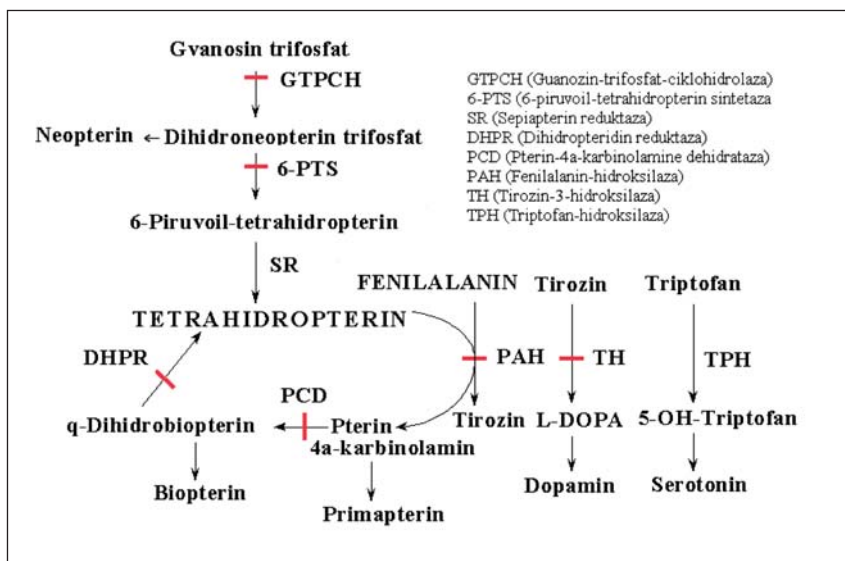
TRANZITORNA HIPERFENILALANINEMIJA

Zakašnjelo sazrijevanje PAH u novorođenčadi može dovesti do HPA koja može trajati nekoliko dana ili tjedana i nije

praćena pojavom fenilpiruvične kiseline u mokraći. Tranzitorna HPA se sreće i kod djece koja su hranjena mlijekom sa visokim sadržajem proteina. Blago povišene vrijednosti Phe sreću se i kod tranzitorne tirozinemije novorođenčeta. Radi se o zakašnjelom sazrijevanju 4-hidroksi-fenilpiruvat dioksigenaze (3).

TETRAHIDROBIOPTERIN - DEFICIJENTNA HIPERFENILALANINEMIJA

Funkcija tetrahidrobiopterina (BH4). BH4 je kofaktor za tri enzima: PAH, tirozin-3-hidroksilazu i triptofan-hidroksilazu (Slika 1). Posljednja dva su ključni enzimi u biosintezi neurotransmitera dopamina i serotonina. BH4 se sintetizuje iz guanozin trifosfata



Slika 1. Hidroksilaze aromatskih aminokiseline i funkcija tetrahidrobiopterina

(GTP) posredstvom tri enzima. Tokom enzimatske hidroksilacije aromatskih aminokiselina dolazi do oksidacije BH4 u pterin-4a-karbinolamin. On se potom redukuje u kvinonoid-dihidrobiopterin posredstvom pterin-4a-karbinolamin dehidrataze (PCD). Zatim se kvinonoid-dihidrobiopterin reducira u BH4 pomoću dihidropteridinreduktaze (DHPR). Dakle, u njegovoj regeneraciji učestvuju posljednja dva enzima (10). Neki lijekovi kao što je metotreksat mogu značajno inhibirati aktivnost DHPR.

Deficit BH4, odnosno tetrahydrobiopterin-deficijentna hiperfenilalaninemija, može biti uzrokovan deficitom jednog od sljedećih enzima: guanozin-trifosfat-ciklohidrolaze (GTP-CH), 6-piruvoil-tetrahydropterinsintetaze (6-PTS), dihidropteridin reduktaze (DHPR), pterin-4a-karbinolamin dehidrataze (PCD). Prva dva enzima su uključena u sintezu BH4, a posljednja dva u njegovu regeneraciju.

Incidenca. U oko 2% novorođenčadi sa HPA nađen je deficit BH4. U više od polovine slučajeva radi se o deficitu 6-piruvoil-tetrahydropterin sintetaze (6-PTS), samo manji broj pacijenata ima deficit guanozin-trifosfat-ciklohidrolaze (GTP-CH) i pterin-4a-karbinolamin dehidrataze (PCD), dok je u ostalih nađen deficit dihidropteridinreduktaze (DHPR). Postoje regionalne varijacije u učestalosti BH4 deficita. Najveća incidenca je zabilježena u Saudijskoj Arabiji, vjerovatno kao posljedica konsangviniteta (11).

Klinički simptomi. Benigan tok bolesti imaju pacijenti sa deficitom pterin-4a-karbinolamin dehidrataze (PCD), koji su bez simptoma i imaju blagu HPA.

Teže forme deficita BH4 (deficit 6-piruvoil-tetrahydropterin sintetaze, guanozin-trifosfat-ciklohidrolaze, dihidropteridin reduktaze) imaju sljedeće kliničke manifestacije: mentalna retardacija, konvulzije, poremećaj tonusa, pospanost, iritabilnost, atetoza, hipertermija, hipersalivacija, poremećaj gutanja, mikrocefalija. Klinička slika bolesnika sa deficitom BH4 je napredovanje neuroloških patoloških promjena, usprkos primjeni dijete sa smanjenim unosom fenilalanina. Zanimljivo je da se ishranom ipak postiže normalna razina Phe u serumu, ali bez učinka na razvoj bolesti. Druga neprilika uz taj metabolički defekt jest da vrijednosti Phe mogu biti ispod nivoa koji zahtijeva liječenje, što može dovesti u zabludu da se radi o nefenilketonuričnoj hiperfenilalaninemiji koja ne zahtijeva posebnu ishranu.

Dijagnoza. U svim slučajevima perzistentne HPA neophodan je selektivni skrining na deficit BH4. Iako su ovo rijetki poremećaji, njihova detekcija selektivnim skriningom je esencijalna za tretman i ishod. Vrijednosti Phe u krvi variraju od 0,12 do 2,5 mmol/L. Sve varijante deficita BH4 mogu se diferencirati od klasične PKU mjerenjem pterinskih metabolita u urinu (neopterin, biopterin, primapterin) i određivanjem aktivnosti DHPR u eritrocitima iz uzorka na filter-papiru. Ova dva testa su esencijalna za dijagnozu deficita BH4. Ukoliko su testovi pozitivni, mogu se u specijaliziranim ustanovama uraditi sljedeći testovi: test opterećenja sa BH4 i analiza folata i metabolita neurotransmitera u likvoru (12). Dijagnoza svih deficita BH4 moguća je pomoću molekularne genetike.

Liječenje se sastoji u restrikciji unosa Phe. Mada se ishranom siromašnom fenilalaninom ne sprečava neurološko oštećenje, ona se preporučuje u liječenju, pošto visoke koncentracije Phe inhibišu sintezu neurotransmitera. Čini se da je najefikasniji tretman primjena prekursora neurotransmitera L-dopa i 5-hidroksitriptofana čime se može spriječiti neurološko oštećenje ukoliko je liječenje započeto rano. Tretman započet nakon šest mjeseci, mada rezultira izvjesnim poboljšanjem, neće dovesti do obrata već postojećih neuroloških oštećenja. Indicirana je takođe supstitucija BH4, te upotreba folata kod deficita DHPR.

FENILKETONURIČNA EMBRIOPATIJA

Žene oboljele od PKU koje se nisu pridržavale dijetalnog režima tokom trudnoće rađaju djecu (koja inače imaju zdrav genotip ili su heterozigoti za PKU) sa simptomima fenilketonurične embriopatije. Ako je tokom trudnoće vrijednost Phe u krvi bila $> 1,2$ mmol/L razvije se mentalna retardacija u više od 90%, mikrocefalija u 75%, intrauterini zastoj u rastu u 40-50%, postnatalni zastoj u rastu u 51% slučajeva, urođene srčane mane i druge malformacije (13). Žene oboljele od PKU bi trebale održavati koncentraciju Phe 0,12 - 0,36 mmol/L najmanje 3 mjeseca prije koncepcije i tokom trudnoće. Čak i pored uredno provedene dijete prije i tokom trudnoće u 6% djece je registrovana mikrocefalija, a u 4% postnatalni zastoj u rastu. Ukoliko

je metabolička kontrola postignuta prije 8. gestacijske nedjelje ishod je povoljniji, ali je rizik za nastanak urođenih mana, posebno urođenih mana srca, veći.

NOVOROĐENAČKI SKRINING NA PKU

Uzorak krvi na filter-papir se uzima između 3. i 5. dana života. Najčešće korištene metode za određivanje koncentracije Phe u osušenoj kapi krvi su: Guthriev test inhibicije bakterijskog rasta (semikvantitativni) i fluorometrijski metod (kvantitativni) koji se koristi u našem laboratoriju. Granična vrijednost za Phe je 0,24 mmol/L. Slijedi opis procedure prihvaćene u našem laboratoriju.

PROCEDURA

- Ako je inicijalna vrijednost Phe < 0.24 mmol/L, rezultat je normalan;
- Ako je vrijednost ≥ 0.24 mmol/L, odmah retestiramo isti uzorak (2 nalaza):
- Ako je vrijednost Phe u retestiranom uzorku < 0.24 mmol/L, rezultat je normalan;
- Ako je vrijednost Phe u retestiranom uzorku ≥ 0.24 mmol/L i < 0.6 mmol/L, rezultat je sumnjiv te u tom slučaju tražimo odmah drugi uzorak;
- Ako je vrijednost Phe u retestiranom uzorku ≥ 0.6 mmol/L, rezultat je pozitivan. U ovom slučaju obavještavamo roditelje i, ako smo u mogućnosti, nadležnog pedijatra o

neophodnosti hospitalizacije na Odjeljenju za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma Klinike za dječije bolesti u Tuzli radi postavljanja definitivne dijagnoze i započinjanja liječenja.

- Ako je u drugom uzorku Phe < 0.24 mmol/L, rezultat je normalan;
- Ako je Phe u drugom uzorku ponovo ≥ 0.24 mmol/L i < 0.40 mmol/L, indiciran je selektivni skrining na BH4 deficit, kao i kontrola nivoa Phe. Tražimo treći uzorak krvi na 2 filter-papira (ispuniti po tri kružića) i jedan filter-papir natopljen mokraćom;
- Ako je Phe u drugom uzorku ≥ 0.40 mmol/L, indicirana je hospitalizacija. U ovom slučaju obavještavamo roditelje i, ako smo u mogućnosti, nadležnog pedijatra o neophodnosti hospitalizacije na Odjeljenju za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma Klinike za dječije bolesti u Tuzli radi postavljanja definitivne dijagnoze i započinjanja liječenja.

NAPOMENA

Kod svih osoba sa mentalnom retardacijom i teškim poremećajem u ponašanju nepoznatog uzroka treba uraditi skrining na PKU bez obzira na dob. Za osobe kod kojih se dokaže PKU treba primijeniti liječenje u trajanju od najmanje 6 mjeseci. Brojni radovi govore o korisnim efektima djeteta u prethodno neliječenih odraslih osoba.

LITERATURA

1. Blau N, Blaskovics M. Hyperphenylalaninemia. In: Blau N, Duran M, Blaskovics M, eds. *Physician's Guide to the Laboratory Diagnosis of Metabolic Diseases*. London: Chapman&Hall, 1996:65-78.
2. Surtees R, Blau N. The neurochemistry of phenylketonuria. *Eur J Pediatr* 2000;159:109-13.
3. Rezvani I. Phenylalaninsection of defects in metabolism of amino acids. In RE Behrman et al., eds., *Nelson Textbook of Pediatrics*, 17th ed., chap. 74, Philadelphia: Saunders, 2004:398-402.
4. Koch R, Wenz E. Phenylketonuria. *Annu Rev Nutr* 1987;7:117-35.
5. Cockburn F et al. Recommendation on the dietary management of phenylketonuria, Report of the Medical Research Council Working Party on PKU. *Arch Dis Child* 1993;68:426-427.
6. Williamson ML, Koch R, Azen C, et al. Correlates of intelligence test results in treated phenylketonuric children. *Pediatrics* 1981;68:161-167.
7. Pennington BF, van Doorninck WJ, McCabe LL, et al. Neuropsychological deficits in early treated phenylketonuric children. *Am J Ment Defic* 1985;5:467-474.
8. Azen CG, Koch R, Friedman EG, et al. Intellectual development in 12-year-old children treated for phenylketonuria. *Am J Dis Child* 1991;145:35-39.
9. Smith I, Beasley MG, Ades A. Effect on intelligence of relaxing the low phenylalanine diet in phenylketonuria. *Arch Dis Child* 1990;65:311-316.
10. Duch DS, Smith GK. Biosynthesis and function of tetrahydrobiopterin. *J Nutr Biochem* 1991;2: 411-423.
11. Blau N, Barnes I, Dhondt L. International database of tetrahydrobiopterin deficiencies. *J Inherit Metab Dis* 1966;19:8-14.
12. Blau N, Thony B, Spada M, Ponzzone A. Tetrahydrobiopterin and inherited hyperphenylalaninemia. *Turk J Pediatr* 1996;38:19-35.
13. Lenke RR, Levy HL. Maternal phenylketonuria and hyperphenylalaninemia: an international survey of the outcome of untreated and treated pregnancies. *N Engl J Med* 1980; 303:1202-1208.

Rad primljen 15.6.2005. godine. Završene recenzije 17.6.2005. godine.

Kontakt adresa autora: Dr. Alma Toromanović, Klinika za dječije bolesti 75000 Tuzla, Trnovac bb, Tel/fax 00387 35 251 469, e-mail: almat@bih.net.ba